

31(2):197-200

- 13 Doumas M, Tsakiris A, Douma S, *et al.* Factors affecting the increased prevalence of erectile dysfunction in Greek hypertensive compared with normotensive subjects[J]. *J Androl*, 2006, 27(3):469-477
- 14 Ramasamy R, Scovell JM, Wilken NA, *et al.* Management of erectile dysfunction in the hypogonadal man: a case-based review[J]. *Rev Urol*, 2014, 16(3):105-109
- 15 Fanfulla F, Malaguti S, M on tagna T, *et al.* Erectile dysfunction in men with obstructive sleep apnea: an early sign of nerve involvement[J]. *Sleep*, 2000, 23(6):775-781
- 16 Gambineri A, Pelusi C, Pasquail R. Testosterone levels in obese male patients with obstructive sleep apnea syndrome: relation to oxygen desaturation, body weight, fat distribution and the metabolic parameters[J]. *J Endocrinol Invest*, 2003, 26(6):493-498
- 17 Budweiser S, Enderlein S, Jorres RA, *et al.* Sleep apnea is an inde-

pendent correlate of erectile and sexual dysfunction[J]. *J Sex Med*, 2009, 6(11):3147-3157

- 18 钦光跃,高蔚,王国付,等. 男性阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者性功能障碍的研究[J]. *浙江医学*, 2004, 26(4):257-258
- 19 Teloken PE, Smith EB, Lodowsky C, *et al.* Defining association between sleep apnea syndrome and erectile dysfunction[J]. *Urology*, 2006, 67(5):1033-1037
- 20 Liu K, Liu XS, Xiao L, *et al.* NADPH oxidase activation: a mechanism of erectile dysfunction in a rat model of sleep apnea[J]. *J Androl*, 2012, 33(6):1186-1198
- 21 蒋光峰,张金慧,李薇,等. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者血清性激素、一氧化氮、一氧化氮合酶水平的变化及临床意义[J]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2012, 6(4):1006-1008

(收稿日期:2014-10-28)

(修回日期:2014-11-17)

成纤维样滑膜细胞激活在类风湿关节炎中的关键作用及其靶向治疗的研究进展

唐璐 张钰 李青南 陆幸妍

摘要 类风湿关节炎(RA)是临床常见病和多发病,以滑膜组织增生、间质炎性细胞浸润、微血管新生、血管翳形成及软骨和骨组织的破坏等为主要病理特征。目前,其发病机制尚未明确,有越来越多研究表明成纤维样滑膜细胞的异常激活在疾病发生、发展中起着关键的作用。靶向成纤维样滑膜细胞的研究策略可为有效治疗 RA 提供新思路。

关键词 类风湿关节炎 成纤维样滑膜细胞 免疫炎症 靶向治疗

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.06.047

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种常见和多发的自身免疫性疾病,男女性患病比例约1:3,以30~55岁为高发年龄^[1,2]。目前,RA的发病机制尚未明确,可能与遗传、环境、微生物感染等因素诱发特异性基因表达导致机体整体或局部免疫反应等有关。越来越多的证据表明,RA关节滑膜中成纤维细胞样滑膜细胞(fibroblast-like synoviocytes, FLS)的异常激活是RA发生和发展的关键环节^[3]。因此,深入了解RA中FLS激活的机制可为以FLS为靶向的RA防治措施提供策略性思考。

一、FLS激活与RA发病机制的研究

作者单位:510006 广州,广东药学院生命科学与生物制药学院/广东省生物技术候选药物研究重点实验室(唐璐、李青南、陆幸妍);广东省实验动物监测所/广东省实验动物重点实验室(张钰)

通讯作者:陆幸妍,电子信箱:xingyanlu2005@126.com

滑膜是位于关节腔和纤维囊之间的膜性组织,分滑膜衬里层和滑膜下层。滑膜衬里层由1~3层滑膜细胞及疏松结缔组织构成,滑膜细胞包括巨噬细胞样滑膜细胞和FLS两种,其形态特征和功能各异。巨噬细胞样滑膜细胞是一种吞噬细胞,来自骨髓系前体细胞,含大量溶酶体。FLS源于间充质干细胞,富含粗面内质网,除分泌滑液,还分泌细胞外基质支撑滑膜衬里层。滑液由透明质酸和黏蛋白组成,具有润滑关节面和营养软骨的作用。

RA主要病理特征表现为关节滑膜细胞增生、间质炎性细胞浸润、微血管新生和血管翳形成以及软骨和骨组织破坏等。研究者体外培养RA的FLS发现细胞发生肿瘤样变化,其增殖率异常增高但对增殖抑制剂不敏感,显示滑膜增生并非源于FLS的增殖。研究还显示RA的FLS细胞凋亡途径被抑制,其中促凋亡因子如PTEN和SEN-P1的表达上调,但促增

殖因子如 Flip、SUMO-1 和 Myc 的早期表达则受抑制,显示 RA 的 FLS 增多是凋亡抑制所致^[4]。FLS 分泌炎症因子及滑膜衬里层增生刺激 T 细胞、巨噬细胞和中性粒细胞等炎症细胞聚集,使局部炎症因子、趋化因子和基质降解酶活性增高,又进一步激活 FLS,而免疫炎症增强破骨细胞的溶骨作用,侵蚀关节软骨和骨组织,破坏关节的结构和功能^[5]。这是临床上 RA 之所以反复发作、久治不愈及预后不良的原因所在。

FLS 的免疫损伤作用来自自身释放炎症因子和募集炎症细胞释放炎症因子两方面。目前发现,TCR 受体激动剂 IL-21R 通过 TLR (toll-like receptors) 信号通路激活 FLS,使 IL-1 β 和 TNF- α 等炎症因子和趋化因子的表达上调,同时,也导致滑膜组织中免疫细胞如 CD4⁺ T cells、NK 细胞激增,导致免疫炎症^[6]。此外,炎症因子如 TNF- α 、IL-1、IL-15 也能激活 FLS^[7]。hTNF 转基因小鼠的 TNF- α 过表达使小鼠发生慢性滑膜炎、软骨破坏和骨的侵蚀^[8]。目前 TNF 的抑制剂如 TNF- α 单抗已用于抗 RA 临床治疗研究。

二、FLS 激活的主要影响因素及其在 RA 靶向治疗的应用前景

1. 趋化因子及其受体拮抗剂:研究表明,FLS 被激活时会分泌大量的炎症因子而导致免疫损伤^[9]。临床上抗炎治疗是抗 RA 的常规策略,在一定程度上可以减缓炎症损伤,但由于缺乏特异性而导致很多不良反应^[10]。因此,靶向特异性成为炎症因子拮抗剂的研究热点。趋化因子由白细胞和某些基质细胞分泌的细胞因子,对包括内皮细胞、中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞多种靶细胞等具有趋化和激活作用,其受体多属于 G-蛋白偶联受体。趋化因子受体已成为极具吸引力的特异性拮抗剂靶标。目前研究较多的是针对 TNF 超家族的 B 细胞活化因子(B cell-activating factor belonging to the TNF family, BAFF)的抗体或拮抗剂。然而,由于趋化因子的生物效应复杂,存在趋化因子可能同时与多种靶细胞受体结合而激活多条信号通路,导致特异性削弱而不良反应增多^[11]。有文献报道,趋化因子受体 CXCR4 拮抗剂 AMD3100 能显著改善小鼠关节炎模型中小鼠的疾病^[12]。但也表现出诸多不良反应,如心率失常、血小板减少、胃肠道和神经系统症状异常,使临床应用受限^[13,14]。

2. IL-18:IL-18 是近年来新发现的一种前炎

性细胞因子,属于 IL 家族。研究表明,IL-18 能够刺激免疫细胞因子分泌多种细胞因子,促进炎症反应,在慢性感染的早期阶段发挥重要作用。有研究显示,RA 关节滑膜中 IL-18 的表达量明显升高且与 RA 的病情呈正相关^[15]。IL-18 通过促进 FLS 分泌细胞间黏附分子-1、血管细胞黏附分子-1 和 IL-8,参与关节炎的形成和发展。RA 患者外周血单核细胞中 IL-18 水平显著增高与外周血 IFN- γ 水平及疾病活动性相关。IL-18 还诱导外周血单核细胞生成前列腺素 E₂ (PGE₂)、一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOSi)、环氧酶 2 (COX-2)、巨噬细胞炎症蛋白-1 α (MIP-1 α) 和单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1),促进软骨细胞分泌 IL-6 和金属基质蛋白酶-3 (MMP-3),后者导致软骨侵蚀性损伤。IL-18 还促进血管内皮细胞释放 VEGF,调节血管生成,是 RA 后期血管翳形成的主要因素。IL-18 还能明显促进 Th1 细胞分泌 IFN- γ ,其诱导作用较 IL-12 强,且两者有协同作用^[16]。而在人全血细胞培养中发现,IL-18 结合蛋白(IL-18BP)可以抑制 IL-1、TNF- α 及 IL-6 的生成,从而抑制炎症的发生。因此,IL-18 有望成为抗 RA 的新靶标。

3. 细胞周期调控因子:周期依赖性激酶(CDKs)是一个家族系酶,通过调节凋亡信号通路调控细胞增殖和存亡。正常生理状态下,CDKs 受特定抑制剂(CDKis)调控维持动态平衡。CDK 信号通路异常在肿瘤发病机制已有深入研究,CDKi 主要用于开发抗癌药物的研发。有研究者发现,发挥 CDKi 作用的 p21 基因在 RA 的 FLS 上有低水平表达^[17]。此外,p21 基因过表达的 FLS 发生细胞周期阻滞,使细胞因子、MMPs 和组织蛋白酶的下调,相关研究仍处在实验性阶段。

4. 缺氧诱导因子:低氧诱导因子-1 (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)是介导细胞对缺氧微环境适应反应的关键性调控因子,其表达主要受氧浓度调节。近年来研究发现,HIF-1 α 在调节缺氧组织血管新生方面具有重要作用,主要是由于激活 VEGF、PlGF 及其受体和 MMPs 等血管生成相关基因的表达。RA 关节滑膜中产生大量炎症因子刺激滑膜组织中的 HIF-1 α 表达显著上调,进而促进 VEGF 表达,刺激滑膜新生血管形成血管翳,侵蚀破坏关节软骨。Westra 等^[18]报道通过阻断 HIF-1 诱导转录信号通路或降解 HIF-1 蛋白来治疗 RA 取得初步成果。相关研究为 HIF-1 α 作为 RA 的靶向治疗目标

提供了实验依据。

5. NF- κ B 与炎性细胞因子的表达:核转录因子 NF- κ B 在 RA 发病中起着中枢的作用,其激活涉及多种致炎细胞因子。在 II 型胶原和佐剂诱导关节炎大鼠模型中,关节滑膜液 NF- κ B 表达水平显著增加。NF- κ B 调节 RA 众多细胞因子和细胞黏附分子的激活,如细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-12、IFN- γ 、GM-CSF),细胞黏附分子(VCAM-1、ICAM-1),基质金属蛋白酶(MMP-1、MMP-3、MMP-13)^[19]。其中,TNF- α 和 IL-1 β 大量存在于 RA 的关节滑膜液中,是最重要的促炎细胞因子。IL-6 可以加强 IL-1 β 和 TNF- α 对关节软骨的损坏作用。滑膜组织细胞被促炎细胞 TNF- α 、IL-1 β 等刺激从而导致环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、一氧化氮合酶(nitric oxidesynthase, NOS)等过度表达,同时产生大量的 PGE₂ 和 NO。PGE₂ 引起滑膜组织增生和血管翳形成,引起关节肿胀。目前,关于 NF- κ B 激活途径的有效抑制剂越来越多,许多已成为 RA 治疗的临床用药。常见的 NF- κ B 激活途径的有效抑制剂是 NBD 蛋白(NF- κ B essentialmodulator-binding domain peptide)。研究发现,IL-1 β 诱导的 RA 患者滑膜细胞中的炎性因子 IL-6 能被 NBD 蛋白阻断。这对治疗 RA 可能有一定应用研究前景^[20]。

6. 滑膜细胞表面标志物:滑膜由滑膜衬里层和滑膜下层构成。研究发现,二层滑膜细胞存在不同的标志物结合位点。滑膜衬里层的细胞标志物主要有 CD55、VCAM-1;滑膜下层细胞的标志物有 CD90(Thy-1)。目前已开发新一代的细胞标志物,如 Cadherin-11、FAP、CD90、CD248 等。滑膜细胞表面标志物的靶向研究预示标志物有可能成为 RA 治疗研究的新策略。CD55 是补体调节蛋白的主要成员之一,其主要的作用是通过控制补体过度活化,防止宿主细胞受损伤从而避免多种自身免疫性疾病的发生。Hoek 等^[21]分别用野生型和 CD55-/- 小鼠构建胶原诱导性关节炎模型和 K/BxN 转基因小鼠关节炎模型。结果表明,CD55 敲除小鼠炎性因子水平降低且患关节炎的概率降低,提示调节 CD55 对治疗 RA 可能有一定应用研究前景。CD248 是一种跨膜糖蛋白,在 FLS 表面有表达。有研究表明 CD248 分子是滑膜下层的一种新的标志物,其主要作用是具有附着力和促血管生成。Margida 等从银屑病关节炎患者和 RA 患者取得滑膜组织活检样本并且将滑膜 CD248

标记免疫组织化学染色发现,在血管周围和 FLS 均有 CD248 高表达。此外,以 CD248 基因敲除小鼠构建胶原性关节炎模型,结果发现,CD248 基因敲除小鼠患关节炎的概率降低、炎性因子水平降低和关节炎症状改善。提示 CD248 对治疗 RA 可能有一定应用研究前景。钙黏蛋白-11(cadherin-11)是一种同亲型结合的 Ca 依赖的细胞黏着糖蛋白,对胚胎发育的细胞识别、迁移和组织分化以及成体组织器官构成具有重要作用。cadherin-11 黏附在滑膜衬里层的 FLS,在衬里层形成过程中控制着 FLSs 的排列和活动方式,其主要的作用是确保滑膜衬里层的完整性。Kiener 等研究显示 cadherin-11 具有控制 FLS 的侵蚀能力。用 cadherin-11-Fc 蛋白治疗可以减少 RA 滑膜 FLS 的侵蚀能力,结果提示抑制 cadherin-11 活性对减少 RA 关节软骨和骨损伤有潜在应用价值。

综上所述,FLS 激活在 RA 的发生和发展中起了关键作用。在 RA 早期,FLS 通过自身激活并诱发其他炎性细胞的免疫反应产生大量炎性因子,导致局部及全身性免疫反应;在 RA 中、后期则导致滑膜增生侵蚀或增强破骨细胞溶骨作用破坏软骨和骨组织,诱导血管翳形成。因此,以 FLS 为靶细胞的有效干预将成为 RA 防治的新策略。同时,滑膜细胞表面相关标志物可为靶向 FLS 药物研究提供新思路。

参考文献

- 1 Sweeney SE, Firestein GS. Rheumatoid arthritis; regulation of synovial inflammation[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2004,36(3):372-378
- 2 Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis[J]. Nature, 2003,423(6937):356-361
- 3 Firestein GS, Zvaifler NJ. How important are T cells in chronic rheumatoid synovitis:T cell-independent mechanisms from beginning to end[J]. Arthritis Rheum, 2002,46(2):298-308
- 4 Pap T, Meinecke I, Muller-Ladner U, et al. Are fibroblasts involved in joint destruction[J]. Ann Rheum Dis, 2005,64(4):52-54
- 5 Neumann E, Lefèvre S, Zimmermann B, et al. Rheumatoid arthritis progression mediated by activated synovial fibroblasts[J]. Trends Mol Med, 2010,16(10):458-468
- 6 Takakubo Y, Tamaki Y, Hirayama T, et al. Inflammatory immune cell responses and Toll-like receptor expression in synovial tissues in rheumatoid arthritis patients treated with biologics or DMARDs[J]. Clin Rheumatol, 2013,32(6):853-886
- 7 Wood B, Sikdar S, Choi SJ, et al. Abundant expression of interleukin-21 receptor in follicular lymphoma cells is associated with more aggressive disease[J]. Leuk Lymphoma, 2013,54(6):1212-1220
- 8 Tang C, Li Y, Lin X, et al. Prolactin increases tumor necrosis factor alpha expression in peripheral CD14 monocytes of patients with rheumatoid arthritis[J]. Cell Immunol, 2014,290(1):164-168
- 9 Bergman GJ, Hochberg MC, Boers M, et al. Indirect comparison of

- tocilizumab and other biologic agents in patients with rheumatoid arthritis and inadequate response to disease – modifying antirheumatic drugs[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2010,39(6):425–441
- 10 Feist E, Burmester GR. Is tocilizumab in combination with traditional DMARDs safe and effective for patients with active RA? [J]. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2009, 5(3):128–129
 - 11 Lebre MC, Vergunst CE, Choi IY, *et al.* Why CCR2 and CCR5 blockade failed and why CCR1 blockade might still be effective in the treatment of rheumatoid arthritis? [J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e21772
 - 12 Vincent FB, Saulep – Easton D, Figgett WA, *et al.* The BAFF/APRIL system: emerging functions beyond B cell biology and autoimmunity[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2013, 24(3): 203–215
 - 13 Liu J, Merritt JR. Chemokine receptor small molecule antagonists in the treatment of rheumatoid arthritis and other diseases: a current view [J]. *Curr Top Med Chem*, 2010,10(13):1250–1267
 - 14 Magyari L, Varszegi D, Kovessi E, *et al.* Interleukins and interleukin receptors in rheumatoid arthritis: Research, diagnostics and clinical implications[J]. *World J Orthop*, 2014,18;5(4):516–536
 - 15 Song GG, Bae SC, Kim JH, *et al.* Interleukin – 4, interleukin – 4 receptor, and interleukin – 18 polymorphisms and rheumatoid arthritis: a meta – analysis[J]. *Immunol Invest*, 2013,42(6):455–469
 - 16 Sedimbi SK, Hägglöf T, Karlsson MC. IL – 18 in inflammatory and autoimmune disease[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013,70(24):4795–4808
 - 17 Nair BC, Vallabhaneni S, Tekmal RR, *et al.* Roscovitine confers tumor suppressive effect on therapy – resistant breast tumor cells[J]. *Breast Cancer Res*, 2011,13(3):R80
 - 18 Westra J, Molema G, Kallenberg CG. Hypoxia – inducible factor – 1 as regulator of angiogenesis in rheumatoid arthritis – therapeutic implications[J]. *Curr Med Chem*, 2010,17(3):254–263
 - 19 Roman – blas JA, Jimenez SA. NF – kappaB as a potential therapeutic target in osteoarthritis and rheumatoid arthritis[J]. *Osteo Arthritis Cartilage*, 2006,14(9):839–848
 - 20 Gotoh Y, Nagata H, Kase H, *et al.* A homogeneous time – resolved fluorescence – based high – throughput screening system for discovery of inhibitors of IKK beta – NEMO interaction [J]. *Anal Biochem*, 2010,405(1):19–27
 - 21 Hoek RM, de LD, Kop EN, *et al.* Deletion of either CD55 or CD97 ameliorates arthritis in mouse models[J]. *Arthritis Rheum*, 2010,62(4):1036–1042

(收稿日期:2014 – 11 – 10)

(修回日期:2014 – 11 – 28)

滑膜间充质干细胞在软骨修复领域的研究进展

郑伟伟 杨 民

摘 要 自 2001 年发现以来,人们对滑膜间充质干细胞(SMSC)的研究已有十多年,在 MSCs 家族中,SMSC 在骨骼肌系统的治疗和再生方面最具前景,尤其在软骨再生方面。由于具有比骨髓、脂肪、肌肉等来源的 MSC 具有更强自我增殖能力和成软骨能力,滑膜间充质干细胞在未来有可能成为软骨修复领域的种子细胞。本文主要对近年来滑膜间充质干细胞在软骨修复领域的应用及其研究进展进行综述。

关键词 滑膜间充质干细胞 组织修复 软骨 种子细胞

中图分类号 Q254;R329.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.06.048

关节软骨是一种透明软骨,由特殊的致密结缔组织胶原纤维构成基本框架,在这些纤维之间,散在分布着软骨细胞,而这些软骨细胞的功能则是维持关节软骨的正常代谢。关节软骨承受力学负荷,没有神经、血管支配,一旦损伤后难以自行修复。目前软骨修复的治疗主要是自体软骨移植,但其来源有限,不能用于广泛修复。间充质干细胞的出现为再生组织工程提供了新了视野。研究证实,滑膜间充质干细胞(synovial mesenchymal stem cells,SMSC)较其他来源

的间充质干细胞具有更强的成软骨能力^[1],越来越引起人们的重视。

一、SMSCs 的来源及形态学特征

滑膜组织中间充质干细胞含量丰富,仅需少量滑膜即可收集 SMSC,研究表明,将滑膜组织移种到培养皿中培养两周后,1mg 滑膜组织可收集到 21000 个细胞^[1]。滑膜组织除可在健康人体内获取外,类风湿关节炎(RA)或退行性骨关节病(OA)患者也可成为其来源,并且滑膜组织可再生,可通过关节镜获取。

相差显微镜下,SMSC 呈均一的小梭形细胞状,胰酶消化后细胞直径为 10~15μm,细胞核较大,圆形,有明显的核仁。低密度培养时细胞呈纤维细胞

作者单位:241001 芜湖,皖南医学院弋矶山医创伤骨科

通讯作者:杨民,电子信箱:82646373@qq.com